

Aus dem Chromosomenlabor (Leiter: PD Dr. med. G. Stalder)
des Kinderspitals Basel (Vorsteher: Prof. Dr. med. A. Hottinger).

Über das Geschlechtschromatin des Neugeborenen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Heilkunde der
medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Roswitha Eidenbenz

von Zürich



19

64

VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. med. A. HOTTINGER

Tag der Promotion: 1. Juni 1965



Sonderdruck aus «Biologia Neonatorum» Vol. 7, No. 1-2 (1964)

A. EINLEITUNG

I. *Historisches*

Im Jahre 1949 veröffentlichten BARR und BERTRAM ihre Beobachtung eines geschlechtsspezifischen Chromatinkörperchens in den Zellkernen von Neuronen der Katze. Schon 1909 hatte CAJAL ein basophiles Klümpchen beschrieben, das gelegentlich im Kern der Nervenzellen von Katzen und Hunden zu finden sei – ohne jedoch den Zusammenhang mit dem Geschlecht des Tieres zu erkennen. GEITLER (1937) und, unabhängig von ihm, SMITH (1944) machten die ersten Mitteilungen über einen Geschlechtsdimorphismus im Ruhekern von Insekten. Auch die Entdeckung von BARR und BERTRAM war zunächst von mehr wissenschaftlichem Interesse. In den folgenden Jahren wurden Untersuchungen an vielen Tiergattungen und -arten angestellt (MOORE, 1950). Erst als 1953 MOORE, GRAHAM und BARR einen relativ einfachen Test für die Untersuchung am Menschen ausarbeiteten – nämlich die Hautbiopsie, bei welcher sich die Kerne des Stratum spinosum besonders gut zur Beurteilung des Geschlechtschromatins (= GC) eignen – erlangte das Barrsche Körperchen in zunehmendem Maße auch klinisches Interesse. 1954 machten DAVIDSON und SMITH die Entdeckung geschlechtsspezifischer Anhänge, der sog. Drumsticks, an den Kernen der neutrophilen Leukocyten, die anfangs für identisch mit dem GC gehalten wurden, deren Herkunft und Bedeutung aber auch heute noch nicht sicher geklärt ist. Ein Jahr später erreichten MARBERGER, BOCCABELLA und NELSON sowie MOORE und BARR durch die Einführung des Mundepitheltests eine weitere Vereinfachung der zellkernmorphologischen Geschlechterkennung. CARPENTIER u. a. benützten den Vaginalabstrich, ESKELUND Zellen des Urinsediments zur Bestimmung des Geschlechtschromatins.

* Arbeit unter Leitung von PD Dr. med. G. Stalder.

Klinisch ist das GC heute als natürlicher Indikator von wesentlicher Bedeutung und wird v. a. in der Diagnostik der Intersexualitätsformen verwendet, in der gerichtlichen Medizin sowie in der Tumorforschung, bei der Beurteilung des Verhaltens von Homotransplantaten, bei der intrauterinen Geschlechtererkennung und bei der Erforschung des pränatalen Geschlechtsverhältnisses.

II. Herkunft und Bedeutung

Auf Grund seiner färberischen Eigenschaften, seiner Gestalt, Lage und Zahl schlossen MOORE und BARR *et al.*, daß das GC den heterochromatischen Anteil der beiden X-Chromosomen darstelle, die auch während der Interphase in spiralisiertem Zustand verharren. Diese Hypothese der Herkunft des GC von beiden X-Chromosomen erwies sich nach eingehenderen Studien verschiedener Autoren als unwahrscheinlich. Man fand, daß das GC von den heteropyknotischen Teilen nur eines X-Chromosoms gebildet wird.

Schon früh nach seiner Entdeckung wurden Versuche über die Beeinflussbarkeit des GC angestellt. Die Integrität gegenüber hormonalen Einflüssen, Androgenen, Östrogenen, Lebensalter und Kastration bestärkten die Annahme eines primären Geschlechtsmerkmals. In der reifen Eizelle und im Spermium gibt es kein Geschlechtschromatin, während der Spermatogenese hingegen sind sowohl das X- wie das Y-Chromosom heteropyknotisch. Die Entdeckung, daß das GC bereits im späten Blastocystenstadium, beim Menschen ca. vom 16. Tag an, also längst vor der Ausbildung der Gonaden sichtbar wird (PARK, AUSTIN und AMOROSO, 1957), weist ebenfalls darauf hin, daß das GC unter die primären Geschlechtsmerkmale einzureihen ist. Dagegen vertrat HIENZ (1957 und 1959) die Auffassung, daß es sich hier um ein tertiäres Geschlechtsmerkmal handle, d. h. um den Ausdruck eines von den Geschlechtschromosomen beeinflussten Stoffwechselgeschehens im Zellkern, dessen «Deutung aber sehr schwer und höchstens aus der geschlechtsunterschiedlichen Gesamtkonstitution der Individuen möglich ist». Gegen diese Ansicht sprechen vor allem die Ergebnisse der Autoradiographie der DNA-Synthese.

Neuere Versuche, bei denen der Aufbau Tritium-markierter DNA mittels Autoradiographie verfolgt wurde, wiesen eine starke Asynchronie der Chromosomen-Reduplikation auf. Insbesondere erfolgt die DNA-Synthese der beiden X-Chromosomen stark asynchron, indem sich das eine X sehr viel später redupliziert als alle übrigen Chromosomen (LIMA-DE-FARIA *et al.*, 1962; GERMAN, 1962; GIANELLI, 1963; ATKINS, 1963).

Ähnliche Untersuchungen von MULDAL *et al.* (1963) an Zellkulturen mit einem normalen X und einem X-Isochromosom mit 2 langen Armen zeigten, daß das spät reduplizierende X immer das Isochromosom war. Es bestand eine Proportionalität zwischen der Größe des GC, der des abnormen X und der Strahlungsintensität über diesem X, die annehmen ließ, daß die Synthese entlang dem ganzen X gleich stark sei. Daraus schlossen die Autoren, daß dieses X-Chromosom als ganzes den Barrschen Körper bildet. Daß im Normalfall die kurzen Arme des X isopyknotisch bleiben, kann jedoch damit nicht ausgeschlossen werden.

Ob nur der lange Arm des X-Chromosoms das GC bildet, während der kurze möglicherweise weitgehend euchromatisch bleibt, oder ob das eine X-Chromosom als Ganzes heterochromatisch ist, wie OHNO (1962) an Mäuseversuchen und Zellkulturen menschlicher Gewebe nachgewiesen hat, läßt sich bisher nicht mit Sicherheit entscheiden. Diese Frage ist vor allem für die Lokalisation X-gebundener Gene und die Erklärung ihres Verhaltens im Erbgang von Bedeutung, da – wie unten ausgeführt – angenommen werden muß, daß nur euchromatische Chromosomenabschnitte genetische Aktivität besitzen.

Obwohl die beiden Arme des kondensierten X nicht synchron reduplizieren – die kurzen etwas früher als die langen (SCHMID, 1963) – besteht doch kein Unterschied, der eindeutig für das Bestehen euchromatischer Teile dieses Chromosoms spräche. Beobachtungen an X-autosomalen Translokationen zeigten, daß diese sich in bezug auf Heteropyknose dem Verhalten des X anglichen, also entweder als ganzes isopyknotisch oder als ganzes kondensiert waren. Das legt den Schluß nahe, daß immer ein ganzes Chromosom von der Heteropyknose erfaßt wird (OHNO, 1962). Dagegen deutet MILES (1962) die besonders in Zellkulturen häufig beobachteten fadenförmigen Verbindungen vom GC zum Nucleolus (SERR u.v.a.) als euchromatische Segmente des X-Chromosoms.

Diese zytologischen, histochemischen und autoradiographischen Beobachtungen sprechen ebenso wie die genetischen Studien an X-gebundenen Genen für die Herkunft des GC von *einem* X-Chromosom. Den Vorgang der Entfaltung eines Geschlechtschromatins zum X-Chromosom oder umgekehrt der Bildung eines GC aus einem X-Chromosom im Mikroskop zu erfassen, ist allerdings bis jetzt noch nicht gelungen.

Eine von MARY F. LYON (1961) nach Erfahrungen an Mäuseversuchen aufgestellte Hypothese besagt, daß das heteropyknotische X

1. genetisch inaktiv ist, 2. in verschiedenen Zellen des Organismus sowohl väterlichen wie mütterlichen Ursprungs sein kann und 3. früh im Embryonalleben inaktiviert wird. Lokalisierte X-gebundene Gene manifestieren sich also im heterozygoten weiblichen Organismus als Mosaik, was sich sehr eindrücklich an der gelb-schwarz gefleckten Katze demonstrieren läßt. Aus diesem Beispiel geht auch hervor, daß in der Deszendenz einer bestimmten Zelle immer das gleiche X heteropyknotisch ist. Die Hypothese wird gestützt durch die Erkenntnisse über das Verhalten der durch ein X-gebundenes Gen gesteuerten Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-D) der Erythrocyten. Dieses Enzym zeigt bei hemizygoten männlichen Individuen die gleiche Aktivität wie bei homozygoten Frauen. Ein Gendefekt, der zu einem G-6-P-D-Mangel führt, manifestiert sich entsprechend der zufälligen Inaktivierung des gesunden oder kranken X bei der heterozygoten Frau als Mosaik (BEUTLER, 1963). Es bestehen also in diesem Fall zwei Erythrocytenpopulationen, kranke und gesunde, nebeneinander. Ähnliches Verhalten ist bei Farbenblindheit zu finden und bei der seltenen Chorioideremie ist das Mosaik bei Heterozygoten makroskopisch im Augenhintergrund in Gestalt unregelmäßig verteilter Flecke atrophischer und normaler Netzhaut sichtbar (LYON, 1962).

Gegen die Lyon-Hypothese spricht 1. die erst vor kurzem entdeckte Blutgruppe Xg^a , deren Genlocus sich auf dem X-Chromosom befindet (MANN u. Mitarb., 1962). Hier weisen die Heterozygoten nicht das erwartete Mosaik $Xg(a+)$ und $Xg(a-)$ auf, sondern sind ausnahmslos $Xg(a+)$. In bezug auf diesen Genlocus kann also keine zufällige Inaktivierung des einen oder anderen X vorliegen, sondern es muß in jeder Zelle das $Xg(a+)$ -Gen aktiv sein (REED, 1963).

2. Bei Anomalie eines X-Chromosoms wurde beobachtet, daß die Heteropyknose nicht zufällig verteilt ist, sondern immer selektiv das abnorme X betrifft (GRUMBACH *et al.*, 1962).

3. Pat. mit XO, X-IsoX-Konstellation unterscheiden sich vom normalen Individuum, obwohl sie wie dieses nur ein aktives X haben.

GARTLER und SPARKES (1963) stellten eine Theorie auf, die den 2. und 3. Gegengrund entkräftet: sie postulieren, daß auch bei XO und X-IsoX-Individuen im frühembryonalen Stadium ein X-Chromosom inaktiviert wird, daß aber nur diejenigen Zellen, in denen ein normales X aktiv ist, lebensfähig sind. Zellen ohne aktives X oder solche mit aktivem Iso-X gehen zugrunde.

Insbesondere das Verhalten der Xg -Blutgruppe, aber auch die phänotypischen Veränderungen an Pat. mit überzähligen X-Chromo-

somen sprechen dafür, daß das heteropyknotische X nicht vollständig inaktiviert ist. Auch die autoradiographische Asynchronie der DNA-Synthese der verschiedenen X-Regionen läßt sich in dieser Richtung deuten. Individuen mit einem normalen X, das ein Gen für $Xg(a-)$ trägt, und einem IsoX mit Verlust der kurzen Arme sind $Xg(a-)$. Daraus darf man schließen, daß der Genlocus für Xg^a sich auf dem kurzen Arm befindet und daß dieser wenigstens teilweise euchromatisch bleibt. Auch die Genloci für Farbensichtigkeit und G-6-P-D sind auf dem kurzen Arm vermutet worden. LINDSTEN und Mitarb. (1963) haben an einer Pat. mit wahrscheinlich IsoX der langen und Verlust der kurzen Arme sowohl die Blutgruppe $Xg(a-)$ als auch Farbenblindheit festgestellt und folgern daraus, daß beide Gene auf dem kurzen Arm des X lokalisiert sind. Indessen ist aus den Untersuchungen zahlreicher Forscher ersichtlich, daß zwischen Xg^a einerseits und Farbenblindheit und G-6-P-D andererseits eine hohe Rekombinationsrate besteht (JACKSON *et al.*, 1962; ADAM *et al.*, 1962). Wenn man annimmt, daß die beiden letzteren Genloci auf dem langen Arm des X liegen, und entsprechend der Lyon-Hypothese genetisch inaktiviert sind, läßt sich die hohe Rekombination wie auch die Beobachtung an der Pat. von LINDSTEN erklären.

Es bleibt noch die Frage offen, warum nicht alle Zellen im weiblichen Organismus ein GC aufweisen, sondern – je nach Autor, Technik und untersuchtem Gewebe wechselnd – nur 10–90% (SOHVAL, KOSENOW, KLINGER u. a.). Verschiedene Beobachtungen weisen darauf hin, daß Größe, Gestalt und prozentuale Häufigkeit des Auftretens von Geschlechtschromatin in Zusammenhang mit Stoffwechselvorgängen im Zellkern stehen. Das GC ist in der Prophase nur sehr selten, nie in der Telophase oder irgendeiner Teilungsphase sichtbar. MILES stellte 1960 eine umgekehrte Proportionalität zwischen prozentualem Auftreten des GC und der Mitosezahl in Amnionzellen fest. In Zellen, die sich kurz vor der Prophase oder nach der Telophase befinden, ist ein GC meist auch nicht sichtbar, so daß in rasch sich teilenden Geweben nur wenig chromatinpositive Kerne zu finden sind. Nach Befunden von THERKELSEN und PETERSEN (1962) sind die Prozentzahlen GC-positiver Zellkerne während der logarithmischen Wachstumsphase der Zellen in signifikanter Weise erniedrigt. Die Autoren vermuten, daß sich dies mit einer während des logarithmischen Wachstums verlängerten DNA-Synthese erklären läßt, während welcher das GC nicht sichtbar ist.

SCHWARZACHER (1963) beobachtete lebende Zellkulturen im Pha-

senkontrastmikroskop und nach Fixation und Färbung. Bei 46% der lebenden Zellen war ein nach Form, Größe und Lage dem Barrschen Körper entsprechendes dichtes Partikelchen sichtbar, das sich nach Färbung als GC darstellte; in 30% trat das GC erst nach der Färbung in Erscheinung, und 10% der Zellkerne enthielten weder vor noch nach der Färbung ein Chromatinkörperchen. In der lebenden Zelle erscheint das GC als gefalteter Faden von $\frac{1}{2}$ –1 m μ Dicke und 3–5 m μ Länge, seine Dichte und sein Kondensationszustand sind nicht in allen Zellen einer Kultur gleich, änderten sich jedoch während der Beobachtungszeit von 52 Std. in einem Kern nicht.

Nach Erfahrungen von MILES (1960) ist in Präparaten, die mit hypotonischer Lösung vorbehandelt wurden, das GC nur sehr undeutlich oder gar nicht darzustellen, ein Verhalten, das auf die Chromosomen der Metaphase nicht zutrifft.

Es wäre zu erwarten, daß die Größe des GC mit der Kerngröße variiert, indem Kerne kurz vor und während der Prophase ein größeres GC aufweisen als unmittelbar nach der Telophase. Diese Beobachtung wurde z.B. bei Mundepithelabstrichen von Neugeborenen gemacht (TAYLOR, 1963). Im allgemeinen finden sich jedoch auch in rasch wachsenden Geweben nur selten große GC-Körper, was sich wahrscheinlich durch die späte Replikation des heteropyknotischen X erklären läßt (OHNO, 1963).

III. Geschlechtschromatin und Lebensalter

Die Frage nach dem Einfluß von Lebensalter und Hormon auf die Erscheinung des GC stellte sich erneut, als aus Arbeiten von WIEDEMANN, TOLKSDORF und ROMATOWSKI (1956), PEIPER und OEHME (1956), v. HARNACK und STRIETZEL (1956) u.a. hervorging, daß die geschlechtsspezifischen Leukozytenanhänge, die drumsticks, sich in charakteristischer Weise mit dem Lebensalter ändern und, wie CARATZALI (1957) und MITTWOCH (1959) nachwiesen, auch eine Abhängigkeit vom Menstruationszyklus zeigen. Es handelt sich bei den Leukozytenanhängen, bei denen «drumsticks», «sessile nodules», «small clubs», «minor lobes» und «rackets» unterschieden werden, möglicherweise um tertiäre Geschlechtsmerkmale, die vom Stoffwechselgeschehen und insbesondere von der Segmentierung der Neutrophilen beeinflusst sind (PFEIFER). Die verschiedensten Autoren haben immer wieder betont, daß eine ähnliche Beeinflussbarkeit des GC nicht besteht. In diesem Zusammenhang sind Beobachtungen von MACLEAN

erwähnenswert. Er fand bei einem normalen X und einem X-Isochromosom mit 2 langen Armen besonders große und zahlreiche Drumsticks an den Neutrophilenkernen. Im Gegensatz dazu kamen bei Verlust der langen Arme eines X-Chromosoms überhaupt keine Drumsticks vor, und nur 7% der Kerne des Mundepithels waren chromatinpositiv. Der Autor folgert daraus, daß die kurzen Arme des X normalerweise mindestens teilweise euchromatisch sind und daß ihr Teilverlust die Bildung der Drumsticks möglicherweise begünstigt; denn überzählige X haben keinen besonderen Anstieg der Drumstickzahl zur Folge.

In einer vergleichenden Untersuchungsreihe, in welcher das Verhalten der Kernanhänge der Leukozyten mit demjenigen des GC im Mundhöhlenepithel in Abhängigkeit vom Lebensalter verglichen wird, findet KOSENOW (1957) nur uncharakteristische Schwankungen der GC-Häufigkeit. Am niedrigsten sind zwar die Durchschnittswerte für die Neugeborenen der ersten Lebenswoche, jedoch liegen sie innerhalb der Variationsbreite und der Fehlerbreite der Auszählung.

SUTTER (1960) fand bei 45 Probandinnen von der 16. SSW bis zum Alter von 96 Jahren eine auffallende Stabilität der Zahl chromatinpositiver Kerne im Laufe des Lebens. In einer zweiten Untersuchungsreihe konnte auch ein Einfluß durch den Menstruationszyklus ausgeschlossen werden.

Im Gegensatz zu dieser immer wieder beobachteten Stabilität des GC stehen die Befunde von SMITH *et al.* (1962) und TAYLOR (1963), die an Neugeborenen, besonders während der ersten 3 Tage post partum abnorm niedrige Werte für das GC nachwiesen. Es handelt sich nach Angabe der Autoren nicht um eine Verlagerung des GC ins Zentrum der Zellkerne, sondern um eine echte Verminderung der Zahl. Wir werden in der Diskussion auf diese Arbeiten ausführlicher zurückkommen.

Nach einer Publikation von SOHVAL und CASSELMANN (1961) haben Antibiotica einen Einfluß auf die Größe des GC, nicht jedoch auf dessen Häufigkeit. SMITH *et al.* werfen daher die Frage auf, ob kürzere Zeit vor oder unter der Geburt verabreichte Medikamente für die abnormen Befunde verantwortlich gemacht werden könnten, während TAYLOR das Hauptgewicht auf endogene, hormonale Einflüsse legt.

Bei Unklarheit über das genetische Geschlecht könnten also GC-Untersuchungen, die in den ersten Lebenstagen gemacht werden, zu falschen Diagnosen führen, was besonders beim adrenogenitalen Salzverlustsyndrom u.U. die lebensrettenden therapeutischen Maßnah-

men verzögert. Die Abklärung ist aber nicht allein von klinischem Interesse. Da das GC den einzigen im normalen Lichtmikroskop sichtbaren und eindeutig differenzierbaren Chromosomenanteil des Interphasenkerns darstellt, kann die Beobachtung seines Verhaltens eventuell Rückschlüsse auf die chromosomale Aktivität erlauben.

B. FRAGESTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden:

1. Wie verhalten sich die Prozentzahlen geschlechtschromatinpositiver Zellkerne im Abstrich des Mundhöhlenepithels beim normalen weiblichen Neugeborenen im Vergleich zu normalen weiblichen Individuen höherer Altersklassen?
2. Wie verhält sich das GC bei den Müttern unmittelbar post partum?
3. Ändern sich diese Prozentzahlen in den ersten Tagen post partum?
4. Welche Einflüsse können für eine solche Änderung verantwortlich gemacht werden?

C. MATERIAL UND METHODEN

Zur Darstellung des Geschlechtschromatins bedienen wir uns bei den vorliegenden Untersuchungen des Epithelabstrichs und der Gewebekultur.

I. Schleimhautabstriche

a) Mundschleimhautabstrich

Durch leichtes Schaben mit einem Metallspatel wird von der Schleimhaut der Wangeninnenseite etwas Epithel und Schleim gewonnen und dieses in einer Richtung ohne Druck auf einen gut entfetteten Objektträger ausgestrichen. Damit möglichst wenig pyknotische Zellen und Speisereste das Präparat stören, benützen wir jeweils erst den zweiten Abstrich. Die so gewonnenen Präparate werden sofort zur Fixierung in 95%igen Alkohol gebracht und bis zum Färbeprozess darin belassen.

Für die Abstriche bei den Früh- und Neugeborenen, bei denen die Abstrich-technik sehr sorgsam gehandhabt werden muß, da die zarte Schleimhaut leicht blutet, bewährten sich am besten flache, schmale, allseits abgerundete Spatel (wie sie z. B. als Wägespatel in der Chemie verwendet werden). Für die Abstriche an größeren Kindern und Erwachsenen brauchten wir ca. 1 cm breite, vorne gerade, scharfkantige und etwas abgewinkelte Spatel.

b) Vaginal- oder Vulvaabstrich

Die Technik des Abstrichs von den Schleimhäuten der kleinen Labien und des Vaginaeingangs ist prinzipiell die gleiche wie beim Mundepithel. Bei den Neugeborenen, bei denen wir die Vulva- und Vaginalabstriche zum Vergleich heranzogen, liegt die Hauptschwierigkeit in der Kleinheit des Objekts. Nach sorgfältigem Entfernen der Vernix caseosa und eventuell nach Befeuchten mit 1 Tr. physiol. NaCl wurde mit einem besonders feinen Spatel etwas Epithel abgeschabt und in der oben beschriebenen Weise ausgestrichen und fixiert.

c) Färbung

Nach einer Fixierungsdauer von wenigstens 15 Min. werden die Präparate mit Celloidin überzogen – wodurch ein Ablösen der Epithelzellen während des Färbepades vermieden wird – dann nach der von LUDWIG und KLINGER beschriebenen Weise hydrolysiert und mit Thionin gefärbt. Die Hydrolyse in 5n HCl hat den Vorteil, die basophilen Substanzen außer den im Chromatingerüst festgehaltenen DNS sehr rasch zu extrahieren, so daß nach der Färbung mit einem basischen Farbstoff wie Thionin eine Verwechslung des Geschlechtschromatins mit andern basophilen Strukturen wie Nucleolus, Bakterien etc. praktisch ausgeschaltet wird. Nach dem Färbeprozess wird das Celloidin in Äther/Alkohol wieder abgelöst und die Präparate in ein neutrales Medium, G. T. Gurrs DePeX, eingeschlossen.

d) Auszählen und Bewertung

Bei Ölimmersion, Vergrößerung 85×90 oder 85×100 fach, werden von jedem Präparat 100 oder 200 einwandfreie Kerne ausgezählt und dabei diejenigen, die ein randständiges GC aufweisen, besonders notiert. Es werden nur Kerne berücksichtigt, deren Membran nirgends beschädigt, eingebuchtet, geschrumpft oder umgeschlagen ist und die ferner mit Hilfe der Mikrometerschraube in ihrem ganzen Ausmaß beurteilt werden können. An Stellen, wo die Kerne in mehr als 2–3 Schichten übereinanderliegen, ist dies nicht mehr der Fall. In einem geeigneten Gesichtsfeld werden stets sämtliche diesen Kriterien entsprechenden Kerne ausgezählt.

Das Geschlechtschromatin imponiert als etwa 1μ großes, dunkelviolettfarbiges, meist der Kernmembran unmittelbar anliegendes Chromatinkörperchen von dreieckiger, diskusförmiger, plankonvexer, gegen die Kernmembran abgeflachter oder auch U-förmiger Gestalt. Meist ist es im Bereich der stärksten Krümmung der Kernmembran zu finden.

Der Feststellung von Normalwerten für die – unvermeidbar subjektiv gefärbte – Zählweise des Untersuchers dienten 10 Mundepithelabstriche von je 5 normalen Mädchen und Buben verschiedener Altersstufen. Es ergaben sich dabei Werte von <4% für die männlichen und 30–40% für die weiblichen Probanden.

Zur Ermittlung der subjektiven Fehlerbreite wurden 5 Präparate mehrmals an verschiedenen Tagen ausgezählt. Überdies wurden alle Präparate der ersten Untersuchungsreihe fortlaufend numeriert und so, ohne Kenntnis des Code, «blind» ausgezählt, um subjektive Vorurteile so weit wie möglich auszuschließen. Alle Abstriche wurden von der gleichen Person (Verfasserin) entnommen, gefärbt und ausgezählt, damit Unterschiede der Technik oder Bewertung außer Betracht fallen.

e) Die Untersuchungsreihen

1. Eine erste Untersuchungsreihe galt der prozentualen Häufigkeit des GC in Mundepithel- und Vaginalabstrichen von 25 weiblichen Neugeborenen und deren Müttern. Zu diesem Zweck wurden am ersten Tag innerhalb der ersten 12 bis höchstens 18 Stunden post partum, weiter am 2., 3. und 5. Tag p. p. bei den Neugeborenen jeweils 2 Mundschleimhautabstriche (immer von der gleichen Wangenseite) und 2 Vaginalabstriche sowie gleichzeitig von den Müttern je 2 Mundepithelabstriche entnommen.

Es handelte sich um gesunde Neugeborene mit Geburtsgewichten zwischen 2600 g und 4250 g. In der statistischen Berechnung wurden die zwei Kinder mit Geburtsgewichten unter 2700 g nicht berücksichtigt, sondern der späteren Untersuchungsreihe der Frühgeburten zugeordnet, weil sie 2 Wochen vor dem Termin geboren waren.

Die genaue anamnestische Befragung der Mütter ergab in den meisten Fällen einen komplikationslosen normalen Schwangerschaftsverlauf. Insbesondere war in keinem Fall in den letzten 3 Monaten der Gravidität eine Antibiotika- oder Hormontherapie durchgeführt worden. Die meisten Frauen gaben an, gar keine Medikamente eingenommen zu haben. Unter den angegebenen, in den letzten Schwangerschaftsmonaten eingenommenen Medikamenten figurierten: Fe-, Ca-, und Vitamin-Präparate (Ferronicum, Redoxon, Supradyn), Alucol, milde Laxantien, sowie in einem Fall Azo-Gantrisin wegen Pyelitis im 5. Schwangerschaftsmonat.

20 Kinder wurden spontan geboren, 2 davon nach Muttermund-Dehnung bzw. Einleitung wegen Übertragung, ein weiteres nach Gabe von Wehenmitteln wegen sek. Wehenschwäche; bei 3 Geburten erfolgte ein vorzeitiger Blasensprung; zweimal trat Nabelschnurumschlingung und einmal Mekonium-haltiges Fruchtwasser auf. 2 Mütter mußten nach vorzeitigem Blasensprung wegen absinkender Herztöne durch Forceps und 3 durch Sectio entbunden werden (Nr. 7, 11, 23).

Das Wochenbett verlief in allen Fällen ohne Komplikationen und die Kinder entwickelten sich normal.

2. In einem zweiten Untersuchungsgang wurden 11 Früh- und Mangelgeburten von der 29. bis 40. Schwangerschaftswoche und mit Geburtsgewichten von 1070 g bis 2750 g untersucht. Wie oben beschrieben, stellten wir am 1.-5. Tag p. p. und eventuell an weiteren Tagen Abstriche des Mundhöhlenepithels her. Zwei der Kinder (Nr. 3 und 4) waren wegen Blutgruppeninkompatibilität durch Sectio entbunden worden. Das eine (4) war einige Tage leicht ikterisch, ohne daß aber eine Austauschtransfusion nötig geworden wäre. Ein Kind (11) kam als 2. Zwillings in der 40. Schwangerschaftswoche zur Welt. Während der Beobachtungsperiode entwickelten sich alle Kinder normal und ohne Komplikationen, so daß keine besonderen therapeutischen Maßnahmen getroffen werden mußten.

Mit den weiteren Untersuchungen und Experimenten wandten wir uns der Frage zu, welche chemisch faßbaren Faktoren die Häufigkeit des Auftretens von GC in den weiblichen Zellkernen zu beeinflussen vermögen.

3. An 10 Kindern des Kinderspitals im Alter von 3 Monaten bis 16 Jahren wurden vor, bzw. nach Absetzen und während der Therapie mit Antibiotika Abstriche vorgenommen.

4. 5 weitere Kinder zwischen 1 Monat und 11 Monaten erhielten während 5 aufeinanderfolgenden Tagen 2 mg Prednison (Ultracorten-H) pro kg Körpergewicht. An 3 verschiedenen Tagen vor und am 1., 3. und 5. Tag während der Therapie sowie 5 Tage nach Absetzen wurden je 3 Abstriche hergestellt.

II. Gewebekulturen

Der Ermittlung, ob ein Faktor im Serum von Graviden oder Neugeborenen einen Einfluß auf die prozentuale Häufigkeit des kindlichen GC ausübt, dienten Gewebekulturen von zwei 7 Jahre alten Mädchen, die statt mit dem üblichen AB-Serum mit steril gewonnenem Graviden- oder Neugeborenenserum (Nabelschnurblut) aufgezogen wurden.

Die Fibroblastenkulturen (Muskelfascie) wurden nach der Methode von HARNEDEN, KELLOGG und HSU angelegt. Wir achteten darauf, daß die Fascie von einem Mädchen mit der selben Blutgruppe stammte wie die des verwendeten Serums (A). Gleichzeitig wurden Kontrollkulturen mit normalem A-Serum aufgezogen. Die Kulturen wurden 14 Tage im Brutschrank gehalten, dann in 95%igem Alkohol fixiert und in der gleichen Weise wie die Abstriche gefärbt und ausgezählt.

D. BEFUNDE

Die bei den Müttern und Neugeborenen in den ersten 5 Tagen post partum gefundenen Prozentzahlen für das GC im Mundepithelabstrich gehen aus den Tabellen I und II, sowie aus der graphischen Darstellung hervor. Gruppe A umfaßt alle Probanden, bei welchen innerhalb der ersten 12 Stunden post partum, Gruppe B diejenigen, bei denen innerhalb der ersten 18 Std. post partum der erste Abstrich gewonnen wurde. In der Tabelle sind die Neugeborenen nach steigenden Geburtsgewichten geordnet. Die Numerierung der beiden ersten Tabellen ist korrespondierend (d.h. Nr. 5 in Tabelle II ist die Mutter von Nr. 5 in Tabelle I).

Mit Hilfe der Fisherschen t-Formel wurden die Mittelwerte des 1. und 5. Tages statistisch miteinander verglichen. Obwohl die Werte innerhalb der Streubreite liegen, ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den am 1. und den am 5. Tag post partum gewonnenen Abstrichen bei den Neugeborenen ($P < 0,01$). Bei den Müttern ließ sich im Durchschnitt ein leichter, jedoch uncharakteristischer Abfall der GC-Werte post partum nachweisen.

Auf der Tabelle III (Frühgeburten) fallen die von Anfang an hohen Prozentzahlen der ersten 4 besonders kleinen und unreifen Kinder auf. Ebenso verhält sich Nr. 7, während 9 und 11 den charakteristischen Anstieg der reifen Neugeborenen zeigen. Die übrigen 4 sind uncharakteristisch.

In der Versuchsreihe mit Cortison (Tabelle IV) finden sich während der Dauer der Medikation signifikant niedrigere Werte chromatinpositiver Kerne als vorher und nachher. Wie oben wurde der Mittelwert

vom 5. Tag der Cortisontherapie mit dem Mittelwert aller Abstriche vor der Cortisongabe verglichen ($P < 0,01$).

Eine Beeinflussung der prozentualen Häufigkeit des GC durch Antibiotica konnte nicht nachgewiesen werden. Auch morphologisch, Größe oder Gestalt betreffend, fielen nach visueller Schätzung keinerlei Veränderungen auf (Messungen wurden nicht vorgenommen).

Die Ergebnisse der Experimente mit Gewebekulturen gehen aus Tabelle VI hervor. Die Kontrollkulturen, die mit normalem A-Serum aufgezogen wurden, zeigen in beiden Fällen höhere Werte GC-positiver Kerne als die Versuchskulturen, ein signifikanter Unterschied besteht jedoch nicht ($P > 1$). Untereinander dürfen die Kulturen nur mit Vorbehalt verglichen werden, da das Gewebe von 2 verschiedenen Personen stammt.

Aus Tabelle VII ist ersichtlich, wie groß die Variationsbreite innerhalb ein und desselben Präparates bei mehrfacher Zählung verschiedener Stellen sein kann. Bei mehrfachem Auszählen immer der gleichen markierten Stelle erwies sich der subjektive Zählfehler als geringer ($S = \pm 2,2$).

Die individuelle Streuungsbreite läßt sich aus Tabelle IV ablesen. Die angeführten Zahlen entsprechen 100 ausgezählten Kernen je Präparat, darunter sind die Durchschnittswerte angegeben. Aus den an 3 verschiedenen Tagen vor der Cortisonmedikation und 5 Tage nach Absetzen derselben ermittelten Werten ergibt sich die individuelle Variationsbreite.

Die mit Neugeborenen- bzw. Graviden-Plasma aufgezogenen Kulturen enthielten große Zellkerne mit oft großem, hellem Chromatinkörper. Die Gravidenplasmakulturen zeigten häufig eigenartig bizarre Kernformen mit Lappen und Ausbuchtungen, uneinheitlich großem und gelegentlich gedoppelt erscheinendem GC. In 2 Präparaten wurden einige Male 2 GC-Körper pro Kern gezählt. Häufig war eine deutliche, feine, fadenförmige Verbindung zwischen GC und Nucleolus sichtbar. Die Kontrollkulturen waren, wie auch die mit dem Neugeborenen-Plasma behandelten Kulturen, völlig unauffällig; sie enthielten länglich gebaute Kerne von gleichmäßiger Größe und Form und einem typischen GC-Körper.

Die Abstriche bei den Neugeborenen bestanden meist aus besonders gut erhaltenen Zellen, deren Kerne oft größer waren als die bei Erwachsenen oder älteren Kindern gefundenen. Gelegentlich ist in den großen Kernen auch ein größeres, heller gefärbtes, gleichsam aufge-

lockertes GC-Körperchen zu beobachten, das möglicherweise dem Stadium einer frühen Prophase entspricht.

Während in Mundschleimhautabstrichen nur selten Chromatinkörper von Größe und Gestalt des Geschlechtschromatins im Innern des Kerns anzutreffen sind, kommt das bei Vaginalepithelien sehr häufig vor. Es entsteht sogar der Eindruck, daß in besonders guten Präparaten, deren Zellen z. T. noch im Epithelverband geblieben sind und beim Ausstreichen nicht durch Druck und Quetschen gelitten haben, der Anteil des nicht randständigen GC weitaus überwiegt. Die Chromatinkörper haben hier meist diskusförmige Gestalt mit zentraler Aufhellung. Am wahrscheinlichsten läßt sich diese Erscheinung dadurch erklären, daß sich das GC in den flach disciformen Kernen des Mundhöhlenepithels fast immer an den am stärksten gekrümmten Rändern des Diskus befindet, während das bei den doch mehr ellipsoid-kugeligen Kernen der Schleimhäute des äußeren Genitale nicht der Fall ist. Obwohl auch hier der Barrsche Körper der Kernmembran anhaftet, erscheint er je nach der optischen Projektion bald mehr zentral, bald peripherer gelegen. Da jedoch damit das Kriterium der Randständigkeit hinwegfällt, besteht die Gefahr einer Verwechslung mit andern, nicht geschlechtsspezifischen Chromatinkörpern in vermehrtem Maße. Auszählung nur der in der jeweiligen optischen Projektion als randständig erscheinenden Chromatinkörper ergäbe andererseits zu sehr vom Zufall abhängige Resultate, als daß sie für eine genauere quantitative Erfassung verwendet werden könnten. Wir haben aus diesem Grund und wegen der oft unzureichenden Beschaffenheit der Präparate (zuviel pyknotische Zellen und Vernix caseosa, zu wenig einwandfreie Kerne) auf die Befunde der Vaginalabstriche für die statistischen Vergleiche verzichtet. Wurden auch die zentral gelegenen Chromatinkörper unter Berücksichtigung der Kriterien von Form und Größe bei der Auszählung in Betracht gezogen, so waren in mehr als der Hälfte der Vaginalabstriche zwischen 70 und 100% der Zellkerne chromatinpositiv, Werte, wie wir sie in den Mundepitheltesten nie erreichten.

Bis zum Färbeprozess in 95%igem Alkohol belassene Präparate hielten wir für die erforderliche exakte Beurteilung feiner Kernstrukturen für geeigneter als nach der Fixation getrocknete, die eine größere Anzahl pyknotischer Kerne zu enthalten schienen.

TABELLE I

Prozentuale Häufigkeit des Geschlechtschromatins beim Neugeborenen vom 1. bis 5. Tag post partum
Zahlen pro mindestens 200 bis höchstens 1000 ausgezählte Zellkerne

Percentage of sex chromatin positive nuclei from buccal smears of 23 female newborns on the first 5 days of life

Le pourcentage du corpuscule en chromatine sexuelle (= CS) dans la muqueuse buccale chez le nouveau-né pendant les 5 premiers jours post partum

	Nr.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	5. Tag	Geburts- gewicht	Besonderheiten
A.	1	18,0	17,5	25,5	24,5	2800 g	vorzeitiger Blasensprung absinkende HT, Forceps
	2	17,5	17,0	13,0	36,5	3050 g	vorzeitiger Blasensprung
	3	25,0	24,0	28,6	48,0	3310 g	ansteigende HT in EP Nabelschnurumschlingung
	4	11,5	22,0	27,0	29,5	3320 g	vorzeitiger Blasensprung absinkende HT, Forceps
	5	13,5	14,0	27,0	27,3	3400 g	
	6	23,0	18,5	27,5	34,0	3500 g	vorzeitiger Blasensprung
	7	20,0	23,5	21,5	29,5	3550 g	Section
	8	14,0	21,0	26,5	44,0	3620 g	
	9	14,0	11,0	11,0	30,0	3550 g	Mekonium-haltiges FW
	10	24,5	23,5	46,5	40,0	3720 g	vorzeitiger Blasensprung
	11	28,5	31,5	27,5	49,5	3750 g	Section
	12	17,0	12,5	18,5	18,0	3870 g	
	13	12,5	29,0	21,5	43,0	3900 g	
	14	8,0	9,3	20,0	21,5	4130 g	
		17,4 ± 5,9	19,6	24,4	33,9 ± 9,8	Durchschnittswerte	
B.	15	24,0	—	36,5	40,0	2720 g	47 cm, 40. SSW
	16	14,5	14,0	34,0	46,0	2940 g	
	17	6,0	16,5	20,0	26,0	3140 g	
	18	28,5	27,5	36,0	31,0	3150 g	
	19	28,0	37,0	29,5	37,5	3160 g	Wehenschwäche
	20	18,0	12,3	23,0	26,5	3240 g	Einleitung w. Übertragung
	21	19,0	19,0	30,5	29,5	3390 g	Mm-Dehnung, Übertragung 42. SSW
	22	20,0	33,5	32,0	25,0	3980 g	
	23	15,0	14,5	29,0	21,0	4250 g	Section
		20,3 ± 7,1	23,0	30,1	31,4 ± 8,1	Durchschnittswerte	
		18,1 ± 6,3	20,4	26,6	32,9 ± 9,1	Durchschnittswerte aller Probanden (A und B)	

TABELLE II

Prozentuale Häufigkeit des GC bei 24 Müttern vom 1. bis 5. Tag post partum. Zahlen pro mindestens 200 bis höchstens 1000 ausgezählte Kerne

Percentage of sex chromatin positive nuclei from buccal smears of 24 mothers on the first 5 days post partum

Le pourcentage de CS chez 24 mères pendant 5 jours suivant l'accouchement

Nr.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	5. Tag	Alter	Besonderheiten
A. 1	29,6	33,0	41,0	38,0	22j.	I-para, Forceps, Narkose
2	24,5	24,0	18,3	31,5	29j.	I-para
3	30,0	16,6	23,5	28,0	30j.	III-para
4	17,6	28,0	19,0	35,0	21j.	I-para, Forceps, Dammriß, Narkose
5	13,0	23,5	24,5	30,5	34j.	IV-para
6	25,6	18,5	24,5	17,5	22j.	II-para
7	28,0	31,5	28,0	24,5	21j.	II-para, Sectio
8	25,0	14,6	31,0	27,5	34j.	IV-para
9	21,5	24,0	22,5	36,0	27j.	I-para
10	36,5	32,5	30,5	41,5	22j.	I-para
11	36,6	40,5	22,5	45,5	32j.	III-para, Sectio
12	30,0	16,0	16,5	11,5	24j.	I-para
13	46,5	39,3	20,3	51,0	30j.	II-para
14	42,6	23,0	30,5	18,0	37j.	IV-para
	21,3	29,0	—	39,0	26j.	I-para (Kind unter Frühgeburten Nr. 9)
	28,6	26,3	25,2	31,7		Durchschnittswerte
B. 15	21,0	40,0	40,5	29,0	35j.	I-para, Pyelitis im 5. SSMt.
17	39,0	26,5	11,6	38,0	31j.	V-para
18	36,5	35,3	34,0	40,5	19j.	I-para
19	17,0	27,5	17,0	17,5	20j.	I-para
20	19,3	15,5	24,0	27,0	20j.	II-para
21	32,6	24,0	31,3	37,5	32j.	I-para
22	17,5	23,5	20,0	35,5	26j.	II-para
23	38,0	41,5	40,5	23,6	39j.	I-para, Sectio
	25,3	48,5	25,0	33,0	22j.	I-para (Kind unter Frühgeburten Nr. 7)
	27,4	31,4	27,1	31,3		Durchschnittswerte
	28,1	28,2	25,9	31,6		Durchschnittswerte aller Probandinnen
	34,2	37,8	30,3	31,2		Durchschnittswerte der 3 Sectiones

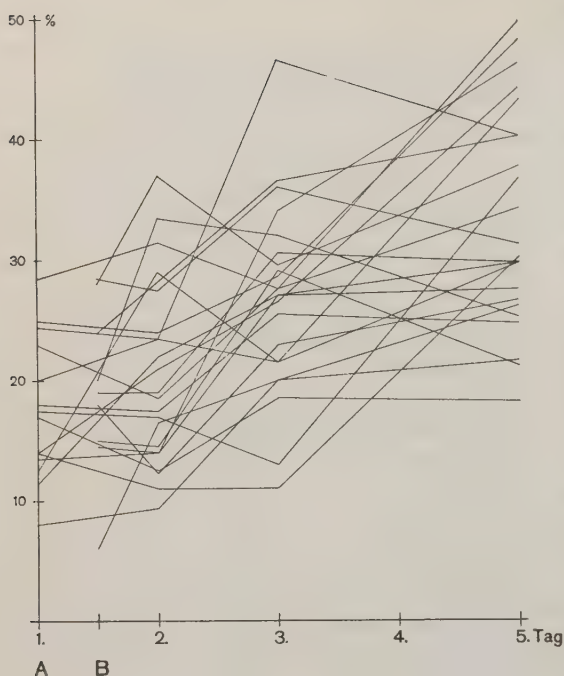


Abb. 1. Neugeborene

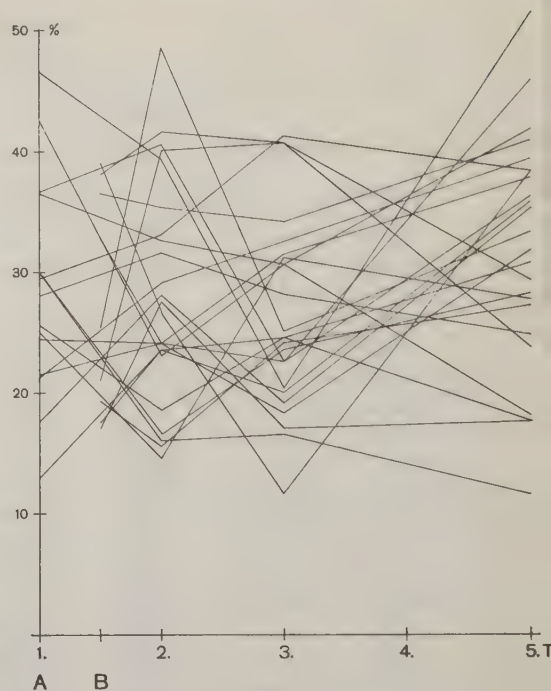


Abb. 2. Mütter

Abb. 1. Graphische Darstellung der prozentualen Häufigkeit des GC im Mundhöhlenepithel von 23 neugeborenen Mädchen in den ersten 5 Tagen post partum. Ordinate: % GC-positiver Zellkerne. Abszisse: Tage post partum.

Fig. 1. Percentage of sex chromatin positive nuclei from buccal smears of 23 newborn females on the first 5 days of life. Ordinate: % of sex chromatin positive nuclei. Abszisse: days post partum.

Fig. 1. Graphique de la fréquence de CS dans la muqueuse buccale de 23 filles pendant les 5 premiers jours de leur vie. Ordinate: % des noyaux contenant de CS. Abszisse: jours suivant l'accouchement.

Abb. 2. Graphische Darstellung der prozentualen Häufigkeit des GC im Mundepithelabstrich von 24 Müttern in den ersten Tagen post partum. Ordinate: % GC-positiver Zellkerne. Abszisse: Tage post partum.

Fig. 2. Percentage of sex chromatin positive nuclei from buccal smears of 24 mothers on the first 5 days post partum. Ordinate: % of sex chromatin positive nuclei. Abszisse: days post partum.

Fig. 2. Graphique de la fréquence de CS dans la muqueuse buccale de 24 mères pendant les 5 premiers jours suivant l'accouchement. Ordinate: % des noyaux contenant de CS. Abszisse: jours suivant l'accouchement.

TABELLE III

*Prozentuale Häufigkeit des GC bei Frühgeburten**Werte pro 300 bis 600 ausgezählte Zellkerne**Percentage of sex chromatin positive nuclei from buccal smears of prematurely born females**Le pourcentage de CS chez des filles nées avant terme*

Nr.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	5. Tag	x. Tag	Geburts- gewicht	Größe	Gestationsalter	Besonderheiten
1			33,0	31,3	37,0 (7. Tag) 40,3 (40. Tag)	1070 g	36 cm	28. Woche	Isolette
2	32,0	32,0	27,3	33,3	36,5 (37. Tag)	1300 g	38 cm	30. Woche	Isolette
3	35,0	29,8		39,6	37,0 (40. Tag)	1330 g	40 cm		Sectionio
4	29,3	31,3	22,0	33,5		2300 g	45,5 cm		Sectionio
5		13,6	30,5	18,0	9,0 (7. Tag) 38,0 (21. Woche)	2400 g			
6	25,3	24,0	32,0	32,5		2590 g	47 cm		
7	46,0	51,5	52,5	42,5		2600 g	46,5 cm	38. Woche	spont.
8	20,0	21,0	22,3	24,0		2620 g	47 cm	38. Woche	spont.
9	23,6	28,0	52,0	47,0		2650 g	48 cm	38. Woche	spont.
10	20,0		25,6	25,3		2700 g	47,5 cm	38. Woche	spont.
	28,9 ± 7,3	28,9 ± 8,3	33,0 ± 7,3	32,7 ± 8,7	Durchschnittswerte				
11	8,0	18,6	21,0	28,0		2650 g	48,5 cm	40. Woche	spont. 2. Zwillling

TABELLE IV

Prozentuale Häufigkeit des GC vor, während und nach Prednisolongaben von 2 mg pro kg Körpergewicht tägl.

Werte pro 100 ausgezählte Kerne und pro Präparat

Percentage of sex chromatin positive nuclei before, during and after medication of Prednisolon 2 mg/kg/die

Le pourcentage de CS avant, pendant et après le traitement avec de la prédnisolone 2 mg/kg/die

Nr.	Datum: vor Cortison			während			nach	Besonderheiten, Diagnose, Alter
	22. 8.	23. 8.	24. 8.	26. 8.	28. 8.	30. 8.	3. 9.	
1	31	30	33	30	26	28	35	Dyspepsie, 3 Monate
	27	25	29	23	22	26	31	
		27	24	22	14	21	21	
	29,0	27,3	28,6	25,0	20,6	25,0	29,0	
2	33	45	52	24	34	20	29	Hasenscharte, Wolfsrachen, 8 Monate
	23	34	33	20	28	24	15	
	17	32	33	15	24	10		
	24,3	37,0	39,3	19,6	28,6	14,3	22,0	
3	25	27	37	15	9	14	28	Racheninfekt., 11 Monate Megacillin vom 25.-30. 8.
	20	22	30	10	9	8	15	
	22,5	24,5	33,5	10,3	9,0	10,6	21,5	
4	27	39	31	22	24	28	34	Soorstomatitis, Hiatushernie, 1 Monat
	21	34	30	19	23	22	29	
		29	20	19	18	12	26	
	24,0	34,0	27,0	20,0	21,6	20,6	29,6	
5	34	—	28	22	27	22	—	patholog. Coli 6 Monate
	31		26	15	20	16		
	28		20	6	15			
	31,0		24,6	14,3	20,6	19,0		
	26,2 ± 5,4	29,5 ± 6,6	32,1 ± 8,1	17,8 > 6,7	20,1 ± 7,0	18,4 ± 7,0		
		29,3 ± 7,0						Durchschnittswert aller Abstriche vor den Cortisongaben

Vergleich der Mittelwerte 29,3 und 18,4 (5. Tag während der Cortisonmedikation) $t = 3,927$ $n = 17$
 $P < 0,01$.

TABELLE V

Prozentuale Häufigkeit des GC vor, bzw. nach Absetzen und während der Therapie mit verschiedenen Antibiotica

Percentage of sex chromatin positive nuclei before, during and after therapy with different antibiotics

Le pourcentage de CS avant, pendant et après le traitement avec de différents antibiotiques

Nr.	vor	während der Therapie			nach Absetzen		Antibioticum	Besonderheiten, Alter
		1. Tag	3. Tag	5. Tag	3. Tag	5. Tag		
1	43,3	49,0	45,6	43,5			Penicillin, Streptomycin	Fremdkörper in Tibia, 10 Jahre
2	49,0	44,3	44,0	—			Megacillin	Hallux valgus, 16 Jahre
3	50,0	57,3	57,0	44,5			Megacillin	St. n. Polio, 14 Jahre
4	40,3	48,0	58,6	52,5			Megacillin	St. n. Polio, 10 Jahre
								Klammerung
5	30,0	35,6	41,3	—			Megacillin	Tonsillectomie, 6 Jahre
6	18,3	37,6	23,3	—			Megacillin	Tonsillectomie, 5 Jahre
7	49,3	37,6	38,0	35,0			Achromycin	Pneumonie, 2 Monate
8	52,0	56,6	66,6	63,3			Achromycin	Lymphadenitis, Angina, 5 Jahre
9		46,0	38,0		36,3	42,6	Chloromycetin	Hydrocephalus, 4 Monate
10		55,0	44,6		39,6	41,3	Chloromycetin	Lungenabszeß, 5 Monate

E. DISKUSSION

I. Einflüsse auf Zahl und Gestalt des Geschlechtschromatins

Bei verschiedenen physiologischen und krankhaften Zuständen wurden Veränderungen von Form und Frequenz des Barrschen Körperchens beschrieben.

a) Chromosomenanomalien

Anomalien des X-Chromosoms, die mit *Vergrößerung und zahlenmäßiger Zunahme des GC* einhergehen, wurden von verschiedenen Autoren an Patientinnen mit primärer Amenorrhoe und anderen klinischen Merkmalen, welche dem Turnersyndrom zuzurechnen sind, nachgewiesen. Das Karyogramm zeigte bei diesen Individuen entweder ein X-Isochromosom der langen Arme oder eine X-chromo-

TABELLE VI

Prozentuale Häufigkeit des GC in Gewebekulturen, die mit Plasma von Graviden bzw. Neugeborenen aufgezogen wurden. GC pro 100 ausgezählte Zellkerne.

Percentage of sex chromatin positive nuclei in tissue cultures treated with serum of a pregnant woman, resp. a female newborn

Le pourcentage dans des cultures de tissus traitées avec du plasma d'une femme gravide ou d'une fille nouveau-né

Nr.	Graviden-Plasma	Kontroll-kulturen	Nr.	Neugeborenen-Plasma	Kontroll-kulturen
g 1	32	41, 51	n 1	38, 38	52
g 2	37, 39	46	n 2	53	45
g 3	48, 51	27, 35	n 3	43, 50	58
g 4	30, 33	33, 35	n 4	49, 56	
g 5	42	29, 36	n 5	57, 58	
g 6	36	44	n 6	40, 47	
g 7	37	36	n 7	46	
g 8	30, 31				
g 9	29, 37				
g 10	32				
	36,3±6,5	37,5±7,3		47,9±7,2	51,6±6,5

TABELLE VII

Streuungsbreite innerhalb eines Präparates und subjektiver Zählfehler bei mehrfachem Auszählen eines Präparates an verschiedenen Tagen

Variability of a smear and subjective mistake by repeated counting on different days

Variation d'un frottis et erreur subjective lors de l'examen répété à différentes reprises

Nr.	Werte pro 100 ausgezählte Zellkerne									
270	29	28	25	23	22	19	17	14	13	10
71	31	29	25	23	22	12	9	9	8	8
31	35	31	24	23	20					
23	50	42	41	38	36	35	32	28	20	16
Mehrfaches Auszählen der gleichen, markierten Stelle										
23	32	30	30	29	28	28	27	27	27	26

somale Translokation oder Duplikation (JACOBS, LINDSTEN, STEWART, EDWARDS, W. GOW, BLANK, WARREN...).

Geringe prozentuale Häufigkeit eventuell verbunden mit auffallend kleinen GC-Körperchen wurden bei Patienten mit einem X-Chromosomenfragment festgestellt (Teilverlust der langen Arme) (JACOBS, DEGROUCHY, ENGEL, BECKER, ...)

Lediglich eine *Herabsetzung der Zahl des GC* findet man bei Mosaik-Individuen, bei denen mindestens eine Zelllinie nur 1 X-Chromosom aufweist (KLINGER und SCHWARZACHER, JACOBS, LINDSTEN, ...).

Mehr als ein Barrsches Körperchen pro Kern enthalten Patienten, welche mehr als 2 X-Chromosomen eventuell neben einem oder mehreren Y besitzen (Tripel-X und 4-X-Frauen, Klinefelter) (BARR, GRUMBACH u. v. a.).

b) Physiologische Zustände

Von diesen Anomalien abgesehen sind seit kurzem als physiologisch zu bezeichnende Veränderungen der GC-Häufigkeit bei neugeborenen Mädchen beobachtet worden.

SMITH *et al.* (1962) registrierten in 38% der 230 untersuchten weiblichen Neugeborenen am ersten Lebenstag weniger als 19% (4–19%) chromatinpositiver Kerne im Mundepithelabstrich. Bis zum 3. Tag stieg deren Frequenz auf durchschnittlich 30% an. Weniger als $\frac{1}{10}$ der neugeborenen Mädchen hatten unmittelbar nach der Geburt mehr als 34% Kerne mit einem Barrschen Körper, während in einer Kontrolluntersuchungsreihe an 100 Probandinnen zwischen 9 Monaten und 67 Jahren die Häufigkeit zwischen 19 und 49% variiert, mit einem Maximum bei 30–40%. Eine gleichzeitige Untersuchung der Mütter von 23 Neugeborenen ergab, daß das mütterliche GC am Tag vor der Geburt durchschnittlich nur in 20% der Kerne des Mundepithels vorkam und bis zum 2. Tag post partum einen Anstieg gegen 30% zeigte. Auch in den Vaginalabstrichen von 23 Neugeborenen trat dieser postpartale Anstieg in Erscheinung.

TAYLOR (1963) fand während einer Untersuchungsperiode von 9 Tagen an 20 weiblichen Neugeborenen kontinuierlich niedrige Prozentzahlen mit einem Höchstwert von 18% am 3. Lebenstag. In einer größeren Versuchsreihe, die 464 normale neugeborene Mädchen umfaßt, finden sich die gleichen tiefen Durchschnittswerte, die am ersten Lebenstag sogar unter 10% liegen. Einige Kinder hatten am ersten Lebenstag sogar überhaupt kein nachweisbares GC, zeigten jedoch bei der Nachkontrolle normales Verhalten weiblicher Zellkerne.

KOSENOW u. Mitarb. (1957) geben als Durchschnittswert für 20 reife Neugeborene der ersten Lebenswoche $20,3 \pm 5,7$ (14–33) GC-positive Zellkerne an, eine Frequenz, die unter der für Frühgeburten gleichen Alters ($26,4 \pm 8,5$) (17–44) und für Erwachsene ($27,4 \pm 9,9$) liegt, sich aber kaum von den bei älteren Kindern gefundenen Zahlen unterscheidet ($23,0 \pm 5,5$) (10–37) (Werte pro 200 Kerne!).

Ebenso hat SUTTER (1960) für die untersuchten 4 reifen Neugeborenen uncharakteristische Werte gefunden (1. Tag: 50%, 2. Tag: 35%, 5. Tag: 36%, 10. Tag: 60%).

In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, daß *reife weibliche Neugeborene* am 1. Lebenstag weniger Barrsche Körperchen im Mundepithelabstrich aufweisen als am 5. Lebenstag und daß die Werte am 1. Lebenstag niedriger sind als bei älteren Kindern und Erwachsenen. Ein Anstieg trat bei allen 23 untersuchten Neugeborenen bis zum 3. oder 5. Lebenstag auf, er darf auch nach der statistischen Berechnung als signifikant bewertet werden (siehe Abb. 1 und Tabelle I). Ausgehend von abnorm niederen Werten unmittelbar nach der Geburt ($18 \pm 6\%$) entspricht der Frequenzanstieg in den ersten 5 Lebenstagen auf $33 \pm 9\%$ einer Normalisierung der GC-Häufigkeit.

Ein solch eindeutiger Befund war bei den *Müttern* meist nicht zu erheben. Nur bei 4 Frauen ließ sich ein deutlicher Anstieg von erniedrigten GC-Werten unter 20% am ersten Tag post partum auf Normalwerte am 5. Tag nachweisen.

Im Gegensatz zu den reifen Neugeborenen zeigten die *Frühgeburten* schon unmittelbar nach der Geburt durchwegs GC-Frequenzen von 20% und darüber, und nur in einem Fall kam es zu einem deutlichen Anstieg innerhalb der ersten 5 Lebenstage. Hingegen wies ein 2650 g schweres Zwillingsskind der 40. Schwangerschaftswoche den für das reife neugeborene Mädchen charakteristischen GC-Befund auf (siehe Tabelle III).

Zusammenfassend ist daraus ersichtlich, daß die prozentuale Häufigkeit des GC bei reifen weiblichen Neugeborenen in den ersten Lebenstagen zwar in der Regel signifikant tiefer liegt als der Norm entspricht, daß sich die Werte aber deutlich von denjenigen männlicher Individuen unterscheiden und gegen Ende der ersten Lebenswoche zur Norm angestiegen sind.

Als praktische Konsequenz ergibt sich daraus: Eine zellkernmorphologische Geschlechtsdiagnostik aus Epithelabstrichen in den ersten Lebenstagen zeigt möglicherweise keine eindeutigen Ergebnisse und läßt insbesondere keine Rückschlüsse auf ein eventuell be-

stehendes Mosaik der X-Chromosomen zu. Bei fraglichen Befunden sind die Abstriche frühestens von der 2. Lebenswoche an zu wiederholen.

c) Antibiotica

SOHVAL und CASSELMANN haben in unfixierten, mit Methylenblau gefärbten Mundepithelzellen keine Veränderung der GC-Häufigkeit unter der Wirkung von lokal applizierten oder oral eingenommenen Antibiotica gesehen. Hingegen stellten sie nach der lokalen Applikation von Aureomycin und der Einnahme von Aureomycin, Chloromycetin, Penicillin und Gantrisin eine deutliche Verkleinerung des Barrschen Körperchens fest.

Wir haben das Verhalten des GC bei 10 Kindern im Alter von 4 Monaten bis zu 16 Jahren vor, bzw. nach und während der parenteralen Therapie mit Penicillin, Streptomycin und Megacillin und der oralen Behandlung mit Chloromycetin und Achromycin verfolgt. Außer bei den beiden Fällen, die Chloromycetin erhielten, handelte es sich jeweils um eine kurzfristige Therapie. Es fielen dabei keine das GC betreffende Veränderungen auf.

d) Cortison

A. TAYLOR (1961) hat bei einem Hermaphroditen eine drastische Reduktion des Barrschen Körperchens unter der Wirkung von Cortison beschrieben und diesen Befund bei einem normalen Mädchen, welches während 10 Tagen mit Cortison behandelt wurde, bestätigen können.

Bei 5 Kindern im Alter von 1–11 Monaten haben wir die GC-Befunde an 2–3 Kontrolltagen, sowie am 1., 3. und 5. Tag einer peroralen Behandlung mit Delta-Hydrocortison (Ultracorten), 2 mg/kg Körpergewicht, und 5 Tage nach Absetzen dieser Therapie untersucht. Zwar kam es in allen Fällen während der Steroidtherapie zu einem Abfall der GC-Frequenz, der auch statistisch signifikant ist, aber dieser war nur in zwei Fällen eindrucklich und in keinem Fall so erheblich wie bei der von TAYLOR beschriebenen Patientin. Ähnliche Beobachtungen wie wir haben auch M. TOLKSDORF und B. DOBLER (1963) an mit Cortison behandelten Kindern gemacht.

Daß Corticoide als oberflächenaktive Stoffe einen Einfluß auf die Gestalt, die Faltung großer Moleküle wie Proteine und Nucleinsäuren – und damit auf ihre Aktivität – ausüben können, ist eine in diesem Zusammenhang besonders interessante Hypothese von YIELDING und TOMKINS (1962).

e) Hormone

Nach übereinstimmenden Befunden vieler Forscher wird die Häufigkeit und Gestalt des GC von exogen applizierten Hormonen, Östrogenen und Androgenen nicht beeinflusst. In der oben erwähnten Versuchsreihe von TAYLOR zeigte $\frac{1}{9}$ der neugeborenen Mädchen höhere GC-Werte als der Norm bei Erwachsenen entspricht. Diese Beobachtung hat A. TAYLOR auch an weiblichen Totgeburten gemacht. Sie schließt daraus, daß der hemmende Faktor mit dem Tode schwinde, und bringt die hohen Werte in Zusammenhang mit dem Abfall der Progesteron-Plasma-Konzentration und der Urin-Oestradiol-Ausscheidung der Mutter.

Indessen hat L. A. SUTTER (1960) bei 10 Frauen während verschiedener Zyklusphasen, nämlich zum Zeitpunkt der höchsten FH- und CLH-Konzentration und des Hormonminimums, keinen signifikanten Unterschied in der GC-Häufigkeit des Mundepithels feststellen können. Ihre Untersuchung, sowie auch die von KOSENOW, die Probandinnen vom Säuglings- bis zum Greisenalter umfaßt, sprechen ebenso wie unsere indifferenten Befunde an den Müttern post partum gegen einen hormonellen Einfluß. Jedoch bliebe zu beweisen, ob sich das GC des Neugeborenen in dieser Hinsicht gleich verhält wie dasjenige höherer Lebensalter.

f) Wachstumsgeschwindigkeit der Zellen

Wie eingangs erwähnt besteht eine Relation zwischen Wachstumsgeschwindigkeit und Frequenz des GC: in Gewebekulturen menschlicher Amnionzellen verhält sich nach Beobachtungen von MILES die Mitosezahl umgekehrt proportional zur prozentualen Häufigkeit des GC, und THERKELSEN und PETERSEN (1962) beschrieben signifikant niedrigere Werte chromatin-positiver Kerne während der logarithmischen Wachstumsphase.

g) Elektrolyte

Vor kurzem hat H. KROEGER (1963) eine durch schrittweisen Ersatz von Na^+ durch K^+ in der Nährlösung induzierte Veränderung des Puffmusters in den Riesenchromosomen von *Chironomus thummi* beschrieben. Seine Beobachtungen lassen vermuten, daß die beiden für die Entwicklung von der Larve zur Puppe wesentlichen Hormone indirekt über die Beeinflussung des K/Na-Verhältnisses auf die Aktivität der Gene, d.h. auf das Puffmuster des Chromosoms wirken.

Schon ein Jahr zuvor haben BROOKE u. Mitarb. Versuche angestellt, in denen sie den Einfluß von KCl-, CaCl_2 - und MgCl_2 -Lösungen verschiedener Molarität auf die Spiralstruktur menschlicher Chromosomen im Metaphasenstadium prüften. Sie wiesen nach, daß KCl in niedriger Konzentration für die Entknäuelung und Dissoziation der Chromosomen verantwortlich ist, während die 2-wertigen Ionen Ca und Mg diese verhindern und eher eine stärkere Spiralisierung verursachen. Die tertiäre Struktur des Moleküls scheint vom Gleichgewicht der Ionen bestimmt zu werden. Es wäre in diesem Zusammenhang interessant, nach einer Beziehung zwischen den Serumelektrolyten und der Frequenz des GC zu fahnden.

II. Mögliche Ursachen der geringen prozentualen Häufigkeit des GC beim reifen neugeborenen Mädchen

a) Stressfaktoren

Schwere der Geburt: normale Geburt, schwere vaginale Geburt, Sectio. Geburtsgewicht, Größe

Eine Beziehung zwischen Geburtsverlauf und GC-Frequenz ist aus unserer Untersuchungsreihe nicht ersichtlich. Schwere der Geburt oder Geburtsgewicht und Größe des Kindes, die etwa als Maßstab für Stressfaktoren gewertet werden können, zeigen weder bei den Neugeborenen noch bei ihren Müttern einen objektivierbaren Zusammenhang mit dem Auftreten des GC, so daß für eine Stresstheorie, für welche die Beobachtungen über den Einfluß von Cortison sprechen könnten, kein faßbarer Anhaltspunkt besteht. Das Ausmaß des Geburtsschocks und die Menge der ausgeschütteten NNR-Hormone kann allerdings von den oben erwähnten Kriterien nicht genügend erfaßt werden.

b) Gestationsalter

KOSENOW (1957) hat in Mundschleimhautabstrichen von Frühgeburten in der 1. Lebenswoche eine – allerdings nicht signifikant – höhere GC-Frequenz gefunden als bei reifen Neugeborenen. In Übereinstimmung mit diesen Angaben läßt sich auch aus unseren Beobachtungen ein Zusammenhang mit dem Gestationsalter ablesen. Nur bei reifen, bzw. termingerecht geborenen Kindern fand sich der postpartale Anstieg der GC-Frequenz, während er bei jungen Frühgeburten fehlt.

c) Serumfaktoren

Um eine Beeinflussung der prozentualen Häufigkeit des GC durch unbekannte Serumfaktoren objektivieren zu können, haben wir die GC-Frequenz in kindlichen Fibroblastenkulturen, welche in Blutgruppen-gleichem Serum von Neugeborenen einerseits und Graviden andererseits gezüchtet wurden, untersucht. Wären physiologische Abweichungen von der Norm, beispielsweise erhöhte Steroidkonzentration oder veränderte Elektrolytwerte, von ursächlicher Bedeutung, so müßte sich dieser Effekt auch *in vitro* reproduzieren lassen. Das indifferente Verhalten des GC in den so behandelten Kulturen spricht gegen einen faßbaren humoralen Faktor. Unter der Wirkung von Gravidenplasma beobachteten wir zwar unregelmäßige Kernformen, aber keine Veränderung der Barrschen Körperchen.

Eine ursächliche Wirkung von kurzer Zeit vor oder unter der Geburt eingenommenen Medikamenten kann ausgeschlossen werden.

d) Wachstumsgeschwindigkeit der Zellen

Ausgehend von der eingangs erwähnten umgekehrten Proportionalität zwischen Wachstumsgeschwindigkeit der Zellen und der Häufigkeit chromatinpositiver Kerne könnte eine besonders große Teilungsaktivität während der ersten Lebenstage vermutet werden. Daß sich diese auf alle Gewebe erstreckt, ist unwahrscheinlich. Bei der katabolischen Stoffwechsellaage der ersten Lebenstage wäre umgekehrt zu erwarten, daß besonders viele Zellen im Interphasenstadium verharren und dementsprechend das GC häufiger als normal auftritt. Intrauterin sind die Zellen des Mundepithels der Austrocknung nicht ausgesetzt, auch seine mechanische Beanspruchung dürfte minimal sein, so daß vermutet werden kann, daß viele alte Zellen liegen bleiben, die dann in den ersten Lebenstagen in vermehrtem Maß pyknotisch werden. Eines der ersten Zeichen der Zellpyknose ist möglicherweise der Verlust des GC (TAVARES, 1962). Dies im Verein mit einer verstärkt einsetzenden Zellregeneration könnte die niedere GC-Frequenz erklären. Die besonders schönen Präparate mit wenig pyknotischen Zellen bei den Neugeborenen stehen allerdings im Gegensatz zur Annahme einer verstärkten Zellpyknose.

Die zum Vergleich angefertigten Vaginalabstriche sind aus den oben angeführten Gründen quantitativ nicht verwertbar. Uns schien in der Versuchsperiode die Anzahl GC-positiver Kerne des Vulva- und Vaginalepithels nur uncharakteristischen Schwankungen unterworfen.

Die aufgeworfene Frage nach der Ursache des selteneren Auftretens chromatinpositiver Kerne steht immer noch offen. Eine ursächliche Rolle von Cortison und eventuell Elektrolytverschiebungen bei diesem Vorgang ist nicht auszuschließen. Dies zu prüfen überschreitet die Möglichkeit dieser rein empirisch-morphologischen Studie und führt ins Gebiet histochemischer, elektronenoptischer und physikalisch-chemischer Forschung. Zu der drängendsten Frage nach der Art der chromosomalen Aktivität überhaupt, ihrer Ansprechbarkeit und Reaktionsweise auf Änderungen des äußeren Milieus, sowie nach der Funktion des als GC zeitweise «stillgelegten» X-Chromosoms kann die grobmorphologische Beobachtung nur einen kleinen Beitrag leisten.

Zusammenfassung

An 25 Neugeborenen und deren Müttern wurde das Verhalten der Prozentzahlen Geschlechtschromatin-positiver Zellkerne im Mundschleimhautabstrich während der ersten 5 Tage post partum beobachtet. Während einer gleichen Zeitspanne wurden von 11 Früh- und Mangelgeburten Abstriche gewonnen und auf ihren Gehalt an GC geprüft. An 5 Mädchen untersuchten wir den Einfluß von Cortison, an 10 weiteren den von Antibiotica auf die Häufigkeit chromatin-positiver Kerne im Mundhöhlenepithel. Mit Graviden- bzw. Neugeborenenplasma aufgezogene Fibroblastenkulturen dienten der Ermittlung eines den Barrschen Körper beeinflussenden Serumfaktors.

Bei den reifen Neugeborenen fanden sich in den ersten Tagen post partum statistisch signifikant niedrigere Prozentzahlen GC-positiver Kerne. Die Werte waren jedoch immer deutlich höher als bei männlichen Individuen und stiegen in den meisten Fällen bis zum 5. Lebenstag zur Norm an. Auch während der Dauer der Cortisontherapie sank die GC-Frequenz signifikant ab. Alle übrigen Mundepithelabstriche der Mütter, der Frühgeburten, der Probandinnen, die Antibiotica erhielten, sowie die Gewebekulturen zeigten normale oder uncharakteristisch veränderte Werte.

Zu diagnostischen Zwecken entnommene Mundepithelabstriche in den ersten Lebenstagen erlauben zwar eine Geschlechtsdiagnose, lassen aber keine Rückschlüsse auf ein eventuell bestehendes Mosaik der X-Chromosomen zu. Bei unsicheren Befunden sind die Abstriche frühestens in der 2. Lebenswoche zu wiederholen.

Frequenz und Größe des GC werden von Anomalien des X-Chromosoms beeinflußt. Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit zeigen, daß auch physiologische Zustände mit einer Veränderung der GC-Häufigkeit einhergehen können. Die ursächliche Bedeutung von Stressfaktoren und Cortison, veränderten Elektrolytverhältnissen, Wachstumsgeschwindigkeit der Gewebe und Gestationsalter der Neugeborenen wird diskutiert.

Summary

Observations were made on 25 newborns and their mothers regarding the percentage of sex chromatin positive nuclei in a buccal mucosa smear taken during the first 5 days post partum. During an equal amount of time smears were taken from 11 premature and less developed infants and examined for their sc (sex chromatin) content. On 5 girls we studied the effect of cortisone and on 10 more the effect of antibiotics on the frequency of chromatin positive nuclei in the buccal epithelium. Fibroblast cultures from gravid or newborn plasma served to find a serum factor influencing the Barr body.

During the first days post partum, a statistically significantly low percentage of sc positive nuclei was found in the fully developed newborns. The values were, however, always markedly higher than those of male individuals and increased in most cases to the norm by the 5th day after birth. Also during the cortisone therapy the sc values dropped significantly. All other buccal mucosa smears of the mothers, the prematures, the subjects who received antibiotics, as well as the tissue cultures showed normal values or values which did not change characteristically.

Buccal epithelial smears taken during the first days of life for diagnostic purposes do allow a diagnosis of the sex but do not permit conclusions regarding the possibility of an existing X-chromosome mosaic. In case of dubious results the smears should be repeated at the earliest during the second week of life.

Frequency and size of the sc are influenced by anomalies of the X-chromosome. The investigations of this report show that physiological conditions can also change the sc frequency. Also discussed is the causative significance of stress factors, of cortisone and of changed electrolytic proportions, of the rate of growth of the tissue, and the gestation age of the newborns.

Résumé

Nous avons observé chez 25 nouveau-nés (filles) et leurs mères pendant les 5 jours suivant l'accouchement le pourcentage du corpuscule de chromatine sexuelle (= cs) dans les noyaux des cellules de la muqueuse buccale. Pendant le même espace de temps l'on a fait des frottis de la muqueuse buccale de 11 enfants nés avant terme pour établir leur teneur en cs. Sur 5 filles on a fait des recherches en vue d'établir l'influence de la cortisone, sur 10 autres l'influence des antibiotiques sur la fréquence du cs dans la muqueuse buccale. A l'aide de cultures de fibroblastes traitées avec du plasma d'une femme gravide ou d'une fille nouveau-née on a essayé de trouver un facteur dans le sérum qui pourrait influencer le corpuscule de Barr.

Chez les enfants nés à terme nous avons trouvé à l'aide de statistique pendant les jours suivant leur naissance un pourcentage beaucoup plus petit de cs. Mais leur nombre restait toujours nettement plus grand que chez les garçons et correspondait à la norme dès le 5^e jour après leur naissance. De même pendant la durée du traitement à la cortisone le nombre du cs était nettement réduit. Tous les frottis des mères, des prématurées et des filles ayant reçu des antibiotiques, ainsi que les cultures de tissus montrèrent des résultats normaux ou peu caractéristiques.

Des frottis prélevés pendant les premiers jours de la vie permettent de diagnostiquer le sexe, mais ne donnent pas la possibilité de découvrir une mosaïque éventuelle des chromosomes X. Lors de résultats peu nets l'on doit refaire les frottis au plus tôt dès la deuxième semaine de la vie.

Le nombre et la grandeur du cs sont influencés par des anomalies des chromosomes X. Les résultats de ce travail montrent qu'il y a aussi des états physiologiques qui peuvent changer la fréquence du corpuscule de Barr. Nous discutons l'influence du stress, de la cortisone, des changements dans les rapports des électrolytes, de la rapidité de croissance des tissus et de la durée de la grossesse sur le nombre du cs.

Acknowledgements

Herrn PD Dr. med. G. STALDER bin ich für die Themastellung und für die Unterstützung, die er mir jederzeit in großzügiger Weise gewährte, zu aufrichtigem Dank verpflichtet. Frau Dr. med. E. BÜHLER und Herrn Dr. med. H. P. KLINGER danke ich für ihre wertvollen Ratschläge und Hinweise. Herrn Prof. Dr. med. A. HÖTINGER, Leiter des Kinderspitals, und Herrn Prof. Dr. med. TH. KOLLER, Leiter

der Frauenklinik, sowie ganz besonders Oberschwester MARTHA ZIMMERMANN gebührt Dank für das verständnisvolle Entgegenkommen, das mir die Gewinnung des Untersuchungsmaterials ermöglichte. Fräulein A. BAERLOCHER und insbesondere Fräulein ESTHER LUDIN danke ich für ihren wertvollen technischen Rat und ihre Hilfe.

Literaturverzeichnis

- ADAM, A. *et al.*: Linkage relations of X borne genes responsible for G-6-P-D and for the Xg blood group. *Lancet* i: 1188 (1962).
- AUSTIN, C. R.: Sex chromatin in embryonic and fetal tissue. *Acta cytol.* 6: 61-68 (1962).
- BARR, M. L.: Das Geschlechtschromatin. Aus Overzier: Die Intersexualität (Thieme, Stuttgart 1961).
- BARR, M. L. and CARR, H.: Correlations between sex chromatin and sex chromosomes. *Acta cytol.* 6: 34-45 (1962).
- BECKER, K. L.; PARIS, J. and ALBERT, A.: Ovarian dysgenesis due to deletion of the X chromosome. Staff meeting of the Mayo Clinic 38: 389-394 (1963).
- BEUTLER, E.; YEH, M. and FAIRBANKS, V. F.: The normal human female as a mosaic of X chromosome activity: Studies using the gene for G-6-P-D-deficiency as a marker. *Proc. nat. Acad. Sci., Wash.* 48: 9 (1962).
- BLANK, C. E.; GORDON, R. R. and BISHOP, A.: Atypical Turner's syndrom. *Lancet* i: 947 (1961).
- BROOKE, J. H.; JENKINS, D. P.; LAWSON, R. K. and OSGOOD, E. E.: Human chromosome uncoiling and dissociation. *Ann. hum. Genet.* 26: 139 (1962).
- DE BRUX, J. A.: Diagnostic accuracy of the sex chromatin determinations. *Acta cytol.* 6: 98-102 (1962).
- CARPENTIER, P. J.: Evaluation of sex chromatin from the reproductive and urinary tracts. *Acta cytol.* 6: 25-33 (1962).
- CARR, D. H.: Chromosome studies in abortuses and stillborn infants. *Lancet* ii: 603 (1963).
- CLEVER, U. und KARLSON, P.: Induktion von Puffveränderungen in den Speicheldrüsen-Chromosomen von *Chironomus tentans* durch Ecdyson. *Exp. Cell Res.* 20: 623 (1960).
- DAVIDSON, W. M. and FLUTE, P. T.: Sex dimorphism in polymorphnuclear neutrophil leucocytes. *Acta cytol.* 6: 13-24 (1962).
- DIXON, A. D. and TORR, J. B. D.: Sex chromatin in oral smears. *Brit. med. J.* ii: 799 (1962).
- EDWARDS, J. H.: Barr bodies. *Lancet* i: 616 (1961).
- ENGEL, E. and FORBES, A. P.: An abnormal medium sized metacentric chromosome in a woman with primary gonadal failure. *Lancet* ii: 1004 (1961).
- FERGUSON-SMITH, M. A.: Nuclear sex and the sex chromosomes. *J. chron. Dis.* 12: 203-210 (1960). - Sex chromatin abnormalities in mentally defectiv individuals. *Acta cytol.* 6: 73-83 (1962).
- FRACCARO, M. and LINDSTEN, J.: Observations of the so-called sex chromatin in human somatic cells cultivated in vitro. *Exp. Cell Res.* 17: 536-539 (1959).
- GARTLER, S. M. and SPARKES, R. S.: The Lyon-Beutler-hypothesis and isochromosome X patients with the Turner syndrom. *Lancet* ii: 411 (1962).

- GERMAN, J. C.: Synthesis of DNA during interphase. *Lancet* i: 44 (1962).
- GIANELLI, F.: The pattern of X chromosome DNA synthesis in two women with abnormal sex chromosome complements. *Lancet* i: 863 (1963).
- DE GROUCHY, J.; LAMY, M.; YANEVA, H.; SALOMON, Y. and NETTER, A.: Further abnormalities of the X chromosome in primary amenorrhoe or in severe oligomenorrhoe. *Lancet* ii: 777 (1961).
- GRUMBACH, M. M.: Sex chromatin and sex chromosomes. *Acta cytol.* 6: 46–60 (1962).
- GRUMBACH, M. M.; MARKS, P. A. and MORISHIMA, A.: Erythrocyte G-6-P-D and X chromosome polysomy. *Lancet* i: 1330 (1962).
- HIENZ, H. A. und EHLERS, P. N.: Das zellkernmorphologische Geschlecht von Mamma- und Prostata-Carzinomen. *Klin. Wschr.* 35: 985 (1957).
- HIENZ, H. A.: Die zellkernmorphologische Geschlechtsbestimmung in Theorie und Praxis. Dr. A. Hüthig-Verlag, Heidelberg (1959). – Sex determination in intrauterine death by means of sex chromatin. *Acta cytol.* 6: 108–121 (1962).
- JACOBS, P. A.; HARNDEN, D. G.; COURT BROWN, W. M.; GOLDSTEIN, J.; CLOSE, H. G.; MAC GREGOR, T. N.; MACLEAN, N. and STONE, J. A.: Abnormalities involving the X chromosome in women. *Lancet* i: 1212 (1960).
- JACOBS, P. A.; HARNDEN, D. G.; BUCKTON, K. E.; COURT BROWN, W. M.; KING, M. J.; MCBRIDGE, J. A.; MACGREGOR, T. N. and MACLEAN, N.: Cytogenetic studies in primary amenorrhoe. *Lancet* i: 1183 (1961).
- JACKSON, C. E. et al.: Colour blindness and blood group Xg^a. *Lancet* ii: 512 (1962).
- KLINGER, H. P.: Morphological characteristics of the sex chromatin. *Acta cytol.* 6: 69–72 (1962).
- KLINGER, H. P. and SCHWARZACHER, H. G.: XY/XXY and sex chromatin positive cell distribution in a 60 mm human fetus. *Cytogenetics* i: 266–290 (1962).
- KOSENOW, W.: Derzeitige Methoden zur Bestimmung des chromosomalen Geschlechts. *Kinderärztl. Praxis* 25: 410 (1957). Nutzen und Problematik der chromosomalen Geschlechtsdiagnose mit dem Leucocyten- und Mundepitheltest. *Dtsch. med. Wschr.* 971 (1958).
- KOSENOW, W.; GLOERFELD, M. und HELLMANN, U. E.: Die Bestimmung des chromosomalen Geschlechts aus dem Mundschleimhautabstrich. *Klin. Wschr.* 35: 826 (1957).
- KROEGER, H.: Chemical nature of the system controlling gene activity in insect. *Nature* 200: 1234 (1963).
- KRUEGER, W. und DIHLMANN, W.: Über das Verhalten geschlechtsspezifischer Kernanhänge nach Kastration. *Klin. Wschr.* 35: 1047 (1957).
- LIMA-DE FARIA, A.; REITALU, J. and BERGMAN, S.: The pattern of DNA synthesis in the chromosomes of man. *Hereditas* 47: 695 (1962).
- LINDSTEN, J.; FRACCARO, M.; IKKOS, D.; KAIJSER, K.; KLINGER, H. P. and LUFT, R.: Presumptive iso chromosome for the long arm of X in man. *Ann. hum. Genet.* 26: 383 (1963).
- LINDSTEN, J.; FRACCARO, M.; POLANI, P. E.; HAMERTON, J. L.; SANGER, R. and RACE, R. R.: Evidence that the Xg blood group genes are on the short arm of the X chromosome. *Nature* 197: 648 (1963).
- LUDWIG, K. S. und KLINGER, H. P.: Eine einfache und sichere Färbemethode für das Sex-Chromatin-Körperchen und dessen feinere Struktur. *Geburtsh. Frauenheilk.* 18: 555 (1958).

- LYON, M. F.: Gene action in the X chromosome of the mouse. *Nature* 190: 372 (1961). – Genetic factors on the X chromosome. *Lancet* ii: 434 (1961). – Sex chromatin and gene action in the mammalian X chromosome. *Amer. J. hum. Genet.* 14: 135 (1962).
- MACLEAN, N.; HARNDEN, D. G. and COURT BROWN, W. M.: Abnormalities of sex chromosome constitution in newborn babies. *Lancet* ii: 406 (1961).
- MACLEAN, N.: The drumsticks in polymorphnuclear leucocytes in sex chromosome abnormalities. *Lancet* i: 1154 (1962).
- MANN, J. D.; CAHAN, A.; GELB, A. G.; FISHER, N.; HAMPER, J.; TIPPETT, P.; SANGER, R. and RACE, R. R.: A sex linked blood group. *Lancet* i: 8 (1962).
- MANN, J. D.: Duchenne muscular dystrophy and the Xg blood group. *Lancet* i: 1026 (1962).
- MELANDER, J. and HANSEN-MELANDER, E.: Activities of the X chromosome. *Lancet* ii: 53 (1962).
- MILES, C. P.: Morphology and functional relations of sex chromatin in cultured amnion cells. *Exp. Cell Res.* 20: 324–337 (1960). – Peripheral position of sex chromatin. *Nature* 191: 626–627 (1961). – Tissue culture and sex chromatin. *Acta cytol.* 6: 84–89 (1962). – Size of the sex chromatin body. *Lancet* ii: 660 (1962).
- MITTWOCH, U.: Properties of X chromosomes. *Lancet* ii: 880 (1961).
- MOORE, K. L.: The sex chromatin. Its discovery and variations in the animal kingdom. *Acta cytol.* 6: 1–12 (1962).
- MOMOLI, G.; REGGIO, E. and VOLET, B.: Sex chromatin, abortions and primary sex ratio. *Acta cytol.* 6: 134–138 (1962).
- MULDAL, S.: Origin of the Barr body. *Lancet* ii: 1384 (1962).
- MULDAL, S.; GILBERT, C. W.; LAJTHA, L. G.; LINDSTEN, J.; ROWLEY, J. and FRACCARO, M.: Tritiated thymidine incorporation in a isochromosome for the long arm of the X chromosome in man. *Lancet* i: 861 (1963).
- OHNO, S.: The single X nature of sex chromatin in man. *Lancet* i: 78 (1961). – Dynamics of the condensed female X chromosome. *Lancet* i: 273 (1963). – More about the mammalian X chromosome. *Lancet* ii: 152 (1962).
- OVERZIER, C.: Die Intersexualität (Thieme, Stuttgart 1961).
- PETERSEN, G. B. and THERKELSEN, A. J.: Number of nucleoli in female and male human cells in tissue culture. *Exp. Cell Res.* 28: 590–592 (1962).
- PFEIFER, G. W.: Altern und chromosomale Geschlechtsmerkmale an Granulocytenkernen. *Zbl. Gynäk.* 81: 1617 (1959). – Do androgens influence the nuclear sexing or polymorphic sexing? *Acta cytol.* 6: 122–125 (1962).
- RACE, R. R. *et al.*: Haemophilia (VIII) and the Xg blood group. *Lancet* i: 1026 (1962). – Source of X in XO females: The evidence of Xg. *Lancet* i: 558 (1963).
- REED, T. E.; SIMPSON, N. E. and CHOWN, B.: The Lyon hypothesis. *Lancet* ii: 467 (1963).
- SANGER, R. and RACE, R. R.: The Xg blood group and familial hypogammaglobulinemia. *Lancet* i: 859 (1963).
- SCHMID, W.: DNA replication patterns of human chromosomes. *Cytogenetics* 2: 175–193 (1963).
- SCHWARZACHER, H. G.: Die Beziehung zwischen Geschlechtschromatin und Geschlechtschromosomen. *Wien. klin. Wschr.* 74: 481–484 (1962). – Sex chromatin in living human cells in vitro. *Cytogenetics* 42: 888 (1963).

- SERR, D. M.; FERGUSON-SMITH, M. A.; LENNOX, B. and PAUL, J.: Representation of the X chromosome in intermitotic nuclei in man. *Nature* 182: 124 (1958).
- SMITH, D. W.; MARDEN, P. M.; McDONALD, M. J. and SPECKHARD, M.: Lower incidence of sex chromatin in buccal smears of newborn females. *Pediatrics* 30: 707 (1962).
- SOHVAL, A. R. and CASSELMANN, W. G. B.: Alteration in size of nuclear sex chromatin mass (Barr body) induced by antibiotics. *Lancet* ii: 1386 (1961).
- SOOST, H. J. and BICKENBACH, W.: Are there differences in the sex chromatin content in cells from different organs in the same individual? *Acta cytol.* 6: 139–162 (1962).
- STEWART, J. S. S.: The X chromosome of man. *Lancet* ii: 1269 (1962).
- SUTTER, L. A.: Über das Geschlechtschromatin des Mundhöhlenepithels unter Berücksichtigung von Lebensalter und Menstruationszyklus. *Acta anat.* 43: 204–218 (1960).
- TAVARES, A. S.: Sex chromatin in tumor cells. *Acta cytol.* 6: 90–94 (1962).
- TAYLOR, A.: Ambiguous sex and sex chromatin in the newborn. *Lancet* ii: 1059 (1962). – Nuclear sex and cortisone. *The Hum. Chromosome Newsletter* 4 (1961), persönliche Mitteilung. – Sex chromatin in the newborn. *Lancet* i: 912–914 (1963).
- THERKELSEN, A. J. and PETERSEN, G. A.: Frequency of sex chromatin positive cells in the logarithmic and postlogarithmic growth of human cells in tissue culture. *Exp. Cell Res.* 28: 588–590 (1962).
- TOLKSDORF, M.: Zur Problematik der Kerngeschlechtsdiagnostik. Vortrag gehalten an der Tagung für Anthropologie und Genetik in Köln 1963. Persönliche Mitteilung.
- WARREN, J. C.; ERKMANN, B.; CHEATUM, S. and HOLMAN, G.: Hilus-cell adenoma in a dysgenetic gonad with XX/XO mosaicism. *Lancet* i: 141 (1964).
- WIEDEMANN, H. R.; TOLKSDORF, M. und ROMATOWSKI, H.: Ergebnisse haematomorphologischer Kerngeschlechtsdiagnosen bei Intersexen und sonstigen Anomalien auf dem Gebiet der Sexualentwicklung. *Ärztl. Wschr.*: 857 (1957).
- WIEDEMANN, H. R.: Über die zellkernmorphologische Geschlechtsdiagnostik und ihre Bedeutung für die Heilkunde. *Medizinische* 33: 34 (1959).
- WOLF-HEIDEGGER, G. und KLINGER, H. P.: Zur Frage der Darstellung des Geschlechtschromatins bei Mollusken, Amphibien und Nagern. *Anat. Anz.* 105: Erg. H. 17–19 (1958).
- YIELDING, K. L. and TOMKINS, G. M.: The regulation of enzyme structure and function by steroid hormones. *Amer. J. Med.* 33: 1 (1962).

